

Biopreservation oder die vergessene Rolle der Fermentation

Ueli von Ah, Emmanuelle Arias-Roth
Agroscope, 3003 Bern, Schweiz

Auskünfte: Ueli von Ah, E-Mail: ueli.vonah@agroscope.admin.ch

<https://doi.org/10.34776/afs14-16> Publikationsdatum: 9. März 2023



Mit Kulturen zur Sicherheit und Lagerfähigkeit von Lebensmitteln beitragen.

(Foto: Johann Marmy, Agroscope)

Zusammenfassung

Die Sicherheit und Qualität der Lebensmittel während derer Lagerdauer spielt für die Vermeidung von Food-Waste eine entscheidende Rolle. Die Haltbarkeit von Lebensmitteln kann einerseits durch die Zugabe von Konservierungsmitteln aber auch durch natürliche Mechanismen verlängert werden. Die Zugabe von Konservierungsmitteln wird bei den Verbraucherinnen und Verbrauchern immer kritischer angesehen. Dadurch wird der Einsatz von z. B. Mikroorganismen als Antagonisten von Verderbniserregern immer interessanter. In den vergangenen Jahren traten daher immer mehr Begriffe wie

Biopreservation, Schutzkulturen und Bioprotection in den Vordergrund. In Vergessenheit geriet jedoch die Tatsache, dass die Fermentation eine der ältesten Methoden zur Konservierung von Lebensmitteln ist. In diesem kurzen Übersichtsartikel soll auf diese vergessene Rolle eingegangen werden. Daneben werden auch gezielte Anwendungen von Mikroorganismen in nicht fermentierten Lebensmitteln besprochen.

Key words: Bioprotection, Biopreservation, Fermentation, Food preservation, shelf life extension.

Einleitung

Die Fermentation von Lebensmitteln ist eine der ältesten, wenn nicht sogar die älteste Methode der Lebensmittelkonservierung. Diese entstand aus dem bereits seit den ersten Tagen der Menschheit vorhandenen Anliegen, Lebensmittel haltbar zu machen. Die Fermentation erfolgte zu Beginn spontan und resultierte nicht immer in sicheren, wohlschmeckenden Lebensmitteln. Im Laufe der Zeit wurden die Methoden zur Herstellung von fermentierten Lebensmitteln verbessert, indem zunächst bereits fermentierte Rohstoffe als Inokulum verwendet wurden (sogenanntes Back-Slopping) und später gezielt speziell ausgewählte Mikroorganismen entweder als Einzelkultur oder als Mischkultur zugegeben wurden.

Die Fermentation der Lebensmittel führte in der Regel auch zu einer Veränderung der sensorischen, textuellen und auch nutritiven Eigenschaften, welche sowohl den Genuss als auch den Nährwert der Lebensmittel erhöhte. Dies führte dazu, dass der eigentliche Zweck der Fermentation, die Verlängerung der Haltbarkeit von Lebensmitteln, etwas in den Hintergrund rückte und der Grund dafür ist, dass die Biopreservation heute kontrovers diskutiert wird (Bourdichon *et al.*, 2021). Dabei wäre der Einsatz von speziell selektionierten Mikroorganismen eine Alternative zu Konservierungsmitteln, welche heute von den Konsumentinnen und Konsumenten kritisch betrachtet werden.

Die hemmende Wirkung der Fermentation gegen Verderbniserreger, aber auch Krankheitserregern, wird dabei durch folgende Fermentationsprodukte resp. Mechanismen erreicht:

- Bildung organischer Säuren und Ethanol
- Bildung niedermolekularer Metaboliten wie Wasserstoffperoxid, Reuterin, Diacetyl, 3-Phenylmilchsäure
- Bildung von antimikrobiellen Peptiden
- Verdrängung/Konkurrenz

Es ist wichtig zu verstehen, dass alle erwähnten Metaboliten resp. Mechanismen als gleichwertig betrachtet werden können. Häufig ist es sogar so, dass diese in Kombination/en wirken und so die Wirkung noch erhöht wird. Daneben kann Fermentation die Lebensmittelsicherheit auch dadurch steigern, dass die verwendeten Mikroorganismen toxische Verbindungen abbauen.

Es ist aber auch wichtig zu verstehen, dass die Fermentation einen Teil des Hürdenkonzeptes darstellt und Massnahmen wie Hygiene und gute Herstellungspraxis nicht ersetzen kann.

Der Einsatz von Mikroorganismen, sei es durch Zugabe als Starterkultur oder spezifisch als «Schutzkultur» erlaubt eine bessere Kontrolle über die Fermentation und unerwünschter Eigenschaften als eine spontane Fermentation. Dadurch wird die Halt- und Geniessbarkeit der Lebensmittel ohne Zugabe von Konservierungs- und Zusatzstoffen gewährleistet. Am bekanntesten sind hier die Milchsäurebakterien, die in vielen Produkten zum Einsatz kommen (Käse, Sauerteig, Sauerkraut, etc.). Daneben können aber auch Hefen und Schimmel Metaboliten bilden, die Verderbniserreger hemmen.

Glossar zu Bioprotection

Biopreservation

Der Begriff Biopreservation wird gemäss der International Dairy Federation (IDF, 2019) folgendermassen definiert: Erweiterte Lebensmittelsicherheit und -Mindesthaltbarkeitsdatum durch vorhandene oder hinzugefügte Microbiota, die Krankheits- oder Verderbniserreger durch Verdrängung oder Metaboliten hemmen.

Schutzkultur

Mikroorganismen, die Lebensmitteln hinzugefügt werden, um Krankheits- und Verderbniserreger zu hemmen, ohne die Eigenschaften des Lebensmittels zu verändern.

BioControl

BioControl ist der Oberbegriff für den biologischen Pflanzenschutz und beinhaltet nicht nur Mikroorganismen, sondern auch Nützlinge wie z.B. gewisse Insekten. Der Begriff sollte im Zusammenhang mit Lebensmitteln nicht verwendet werden.

Fermentation

Fermentation galt ursprünglich als Gärung unter Ausschluss von Luft. Der Prozess selber kann entweder durch Mikroorganismen oder aber durch Enzyme durchgeführt werden. Heute wird unter Fermentation die Umwandlung von organischen Stoffen mittels biologischer Prozesse in Säuren (bei Milchsäurebakterien die Milchsäure) oder Alkohol (z. B. Hefen in Wein oder Bier) verstanden, unabhängig davon, ob Enzyme, mikrobielle oder Zellkulturen zum Einsatz kommen.

In fermentierten Lebensmitteln findet dies spontan oder durch zugegebene Mikroorganismen statt.

In den folgenden Kapiteln gehen wir kurz auf die Metaboliten und die Mechanismen der Mikroorganismen gegen unerwünschte Keime ein und zeigen den möglichen Einsatz von ausgewählten Bakterien zum Einsatz in Ready-To-Eat Lebensmitteln, die nicht als fermentiert gelten. Dabei gehen wir aber nur beschränkt auf das Wirkungsspektrum der Substanzen ein und unterscheiden auch nicht zwischen antibakteriell oder antifungal.

Organische Säuren

Diese Gruppe umfasst sehr viele Metaboliten, in der Fermentation von Lebensmitteln spielen jedoch vor allem folgende organische Säuren eine Rolle:

- Milchsäure
- Essigsäure
- Propionsäure
- Bernsteinsäure (Succinate)
- Ameisensäure

Einige der oben erwähnten Säuren zeigen nicht nur eine antimikrobielle Wirkung, sondern auch organoleptische Eigenschaften (z. B. Essig- und Propionsäure).

Die hemmende Wirkung dieser Säuren beruht einerseits auf der Senkung des pH-Wertes, wobei die Stärke der Wirkung auch vom Dissoziationsgrad der Säuren abhängig ist (Adams, 2014; Doores, 2005; Mani-López *et al.*, 2012). Der hemmende Effekt dieser Säuren basiert nicht nur auf dem pH, sondern auch auf der Konzentration, der Kettenlänge und dem Grad der Verästelung. Der undissoziierte Anteil der Säure ist hauptsächlich für die antimikrobielle Wirkung verantwortlich. Dieser Anteil ist bei schwachen Säuren, zu denen organische Säuren gehören, bei jedem pH in der Regel grösser als bei starken Säuren, so dass die hemmende Wirkung über einen grösseren pH-Bereich geht. Zu erwähnen ist jedoch, dass Milchsäure mit einem pKa von 3,08 eine der stärkeren Säuren im Vergleich mit den anderen erwähnten organischen Säuren ist. In Lebensmitteln kann dieser Effekt durch die Pufferung mit Proteinen und Aminosäuren jedoch nicht direkt verglichen werden. Dieser Effekt muss in der Regel empirisch evaluiert werden (Wilson *et al.*, 2000).

Die Bildung organischer Säuren und damit das Senken des pH-Wertes sollte in der Regel so schnell wie möglich erfolgen, so dass Fremdkeime keine Möglichkeit zum Wachstum haben. Dies ist in direktem Zusammenhang mit der gleichzeitigen Konkurrenz um Substrat und Platz (siehe unten, Kapitel Konkurrenz). Der Verlauf dieser Säuerung muss jedoch auf das Lebensmittel angepasst

werden da eine zu schnelle Säuerung auch negative Effekte auf die Textur, den Geschmack oder die Qualität haben kann.

Im Zusammenhang mit den organischen Säuren ist zu erwähnen, dass die Biopreservation aus mehreren Faktoren besteht, die durch die Säuerung angetrieben werden. Somit ist die Bildung organischer Säuren ein wichtiger Teil dieses Systems.

Niedermolekulare Metaboliten

Organische Säuren sind wahrscheinlich die bekanntesten Metaboliten in fermentierten Lebensmitteln. Daneben werden aber auch noch diverse andere, niedermolekulare Verbindungen hergestellt. Die Aktivität dieser Verbindungen ist in der Regel auf ein breites Spektrum ausgelegt.

In diese Kategorie fallen Substanzen wie Diacetyl, H₂O₂, 3- resp. 4-Phenyl-Milchsäure, Phenolsäure und Reuterin. Diese Verbindungen wirken bereits alleine hemmend auf andere Mikroorganismen, kommen aber in der Regel in Kombination mit anderen Metaboliten vor.

Ein gutes Beispiel hierfür ist Reuterin, welches durch *Limosilactobacillus reuteri* (bisher *Lactobacillus reuteri*) gebildet wird. Dessen hemmende Aktivität gegen Pilze, aber auch gram-negative Bakterien wird durch das ebenfalls von *L. reuteri* gebildete Acrolein verstärkt (Asare *et al.*, 2018; Cleusix *et al.*, 2007; Engels *et al.*, 2016; Schaefer *et al.*, 2010). Reuterin ist ein Aldehyd und somit resistent gegenüber proteolytischen und lipolytischen Enzymen. Des Weiteren ist die Substanz in einem weiten pH-Bereich aktiv.

Diacetyl wirkt ebenfalls antibakteriell, dessen Einsatz ist aber auf Produkte beschränkt, in denen das durch Diacetyl gebildete Aroma erwünscht ist. Bei der Bildung von Diacetyl wird auch CO₂ gebildet, welches auch dafür bekannt ist, Pathogene zu hemmen. Heterofermentative Milchsäurebakterien bilden aus Ameisensäure ebenfalls CO₂, was ebenfalls zur Hemmung von vor allem aeroben, pathogenen Keimen führt.

Phenolsäuren werden insbesondere von *Lactiplantibacillus plantarum* (bisher *Lactobacillus plantarum*) gebildet. Diese wirken vor allem gegen Schimmelpilze und reduzieren z. B. den Gehalt an Aflatoxinen in Mais (Nazareth *et al.*, 2020). In diesem Zusammenhang könnte man sich vorstellen, diese Bakterien direkt auf dem Feld einzusetzen, um bereits dort die Besiedelung mit Aflatoxin-Bildnern zu hemmen. Hierzu müssten jedoch noch entsprechende Untersuchungen durchgeführt werden. Phenyl-Milchsäure kann als 3- oder 4-Phenylmilchsäure vorkommen und wird ebenfalls durch Milchsäurebak-

terien produziert. Die Produktion von 3-Phenylmilchsäure (PLA) ist bei *L. plantarum* am besten untersucht. Die Wirkung ist vor allem in Sauerteig und Backwaren gegen Verderbniserreger als auch mykotoxin-bildende Schimmel bekannt. PLA kann aber auch durch den Pilz *Geotrichum candidum* produziert werden und die unerwünschten *Fusarium* spp. und deren Toxinproduktion hemmen (Dieuleveux *et al.*, 1998; Kawtharani *et al.*, 2020).

Weitere antimikrobiell wirkende Substanzen, die durch Fermentation gebildet werden, sind: Wasserstoff (H₂), Schwefeldioxid (SO₂), Ethanol und neben Reuterin noch weitere Aldehyde. Obwohl auf diese hier nicht speziell eingegangen wird, haben sie durch ihren antagonistischen Effekt eine wichtige Rolle in der Hemmwirkung der zugesetzten Mikroorganismen (Said *et al.*, 2019).

Zu erwähnen ist hier, dass es sicher noch eine Vielzahl weiterer niedermolekularer Substanzen gibt, die bisher noch nicht beschrieben wurden. Viele Mikroorganismen produzieren hemmende Metaboliten beispielsweise nur während der Interaktion und Konkurrenz mit anderen (Mikro-)Organismen. Neue Substanzen findet man deshalb besonders in mikrobiellen Systemen, die aus verschiedenen Spezies zusammengesetzt sind.

Antimikrobielle Substanzen aus Peptiden/Proteinen

Die bekanntesten Substanzen dieser Kategorie sind wohl die Bakteriozine. Das bekannteste davon ist Nisin, welches als einziges Bakteriozin als Zusatzstoff für eine definierte Anwendung zugelassen ist (E234).

In den letzten 50–70 Jahren wurden bereits sehr viele Bakteriozine diverser Milchsäurebakterien beschrieben. Neben *Lactococcus* spp. werden Bakteriozine auch von *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Carnobacterium* spp. und *Leuconostoc* spp. gebildet. Weniger bekannt ist, dass Bakteriozine auch von gram-negativen Bakterien wie *E. coli* gebildet werden können. So wurde das erste beschriebene Bakteriozin, Colicin, aus *E. coli* isoliert (Cascales *et al.*, 2007). Im Gegensatz zu organischen Säuren und niedermolekularen Verbindungen ist die Wirkung der Bakteriozine in der Regel auf ein enges Spektrum gram-positiver Bakterien beschränkt.

Bakteriozine zeichnen sich dadurch aus, dass sie in der Regel thermische Behandlungen und tiefe pH-Werte gut überstehen und aus kurzkettigen Peptiden bestehen. Durch ihre Peptidstruktur sind sie häufig sensitiv gegenüber Proteasen. Allerdings gibt es durchaus Bakteriozine, die gegenüber Proteasen resistent sind.

Die Bildung dieser Bakteriozine soll während der Herstellung und Lagerung/Reifung des Lebensmittels mittels Fermentation geschehen. Dies ist nicht trivial, da

die Bildung von Bakteriozinen von vielen Faktoren abhängig ist. Diese sind unter anderem Hitze-Resistenz, pH und Substrat. Daher ist es in der Regel am besten, die produzierenden Bakterien aus dem Mikrobiom des jeweiligen Rohstoffes des Lebensmittels zu isolieren und zu charakterisieren. So ist sichergestellt, dass die Bildung und die Hemmwirkung des Bakteriozins nicht durch die Eigenschaften des Produktes (Temperatur, pH, Proteasen → Abbau Bakteriozin etc.) gestört wird. Solche Bakteriozinbildner sind in der Regel Teil des bestehenden Mikrobioms eines Lebensmittels.

Bakteriozine sind in der Regel bereits in tiefen Konzentrationen aktiv und haben daher keinen Einfluss auf die sensorische Qualität eines Lebensmittels. Dafür zeigen diese Verbindungen meist ein definiertes Wirkungsspektrum und sind in der Regel nicht aktiv gegen gram-negative Bakterien. Verwendung finden Bakteriozine in der Hemmung von Pathogenen (*Listeria monocytogenes*) und von Verderbnis-Erregern (*Clostridium tyrobutyricum*).

Nisin ist eines der am besten charakterisierten Bakteriozine. Ursprünglich wurde es aus *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isoliert und charakterisiert. Mittlerweile wurde Nisin aber auch in *Streptococcus uberis* (Gross & Morell, 1971; Vos *et al.*, 1993) sowie in *Staphylococcus capitis* (O'Sullivan *et al.*, 2020) gefunden. Dabei tritt Nisin in verschiedenen Variationen auf, die sich durch unterschiedliche Aminosäureabfolgen ergeben. Die bekanntesten Variationen sind Nisin A und Nisin Z welche sich nur in einer Aminosäure unterscheiden.

Pediocin PA-1 ist ein weiteres Bakteriozin, welches vor allem dafür bekannt ist, dass es *Listeria monocytogenes* hemmt. Beschrieben wurde dieses Bakteriozin erstmals in *Pediococcus acidilactici*, mittlerweile wurde es aber auch in anderen Spezies wie z. B. *Lactiplantibacillus plantarum* gefunden. HoldBac Listeria ist ein kommerzielles Produkt eines *Lactiplantibacillus plantarum* Stammes, der Pediocin PA-1 produziert.

Neben den Bakteriozinen gibt es noch sogenannte «bakteriozin-ähnliche hemmende Substanzen» (auf English BLIS abgekürzt). Diese Verbindungen wirken analog zu Bakteriozinen, sind ebenfalls kleine Peptide deren Wirkmechanismen und die Aminosäuresequenz noch nicht ausführlich geklärt sind. In der Literatur finden sich zahlreiche Beispiele und es kann davon ausgegangen werden, dass im natürlichen Mikrobiom noch weitere vorkommen.

Bakteriozine sind ein Teil des Mechanismus der natürlichen Konkurrenz und wirken daher häufig gegen Stämme derselben Spezies. Dies kann ein Nachteil für zugesetzte Starterkulturen sein. Daher muss eine

Schutzkultur auf die verwendete Starterkultur abgestimmt werden.

Neben den bekannten Bakteriozinen, die vor allem gegen Bakterien wirken, gibt es auch Peptide, die von Milchsäurebakterien produziert werden, welche antifungal wirken und so z.B. *Aspergillus flavus* in Mais hemmen (Muhialdin *et al.*, 2020). Der Einsatz von Bakterien mit antifungalen Peptiden ist jedoch noch nicht so etabliert wie der von bakteriozinbildenden Kulturen.

Verdrängung bzw. Konkurrenz

Da Mikroorganismen praktisch jede Nische auf diesem Planeten besetzen, ist der Konkurrenzdruck innerhalb verschiedener Spezies aber auch Stämmen sehr gross. Um sich in einer Nische zu etablieren oder die Konkurrenzflora zu hemmen, setzen die Bakterien ein ganzes Arsenal an Mechanismen und Substanzen ein. Einige davon wurden bereits in den vorherigen Kapiteln beschrieben.

Allerdings spielen bei dieser Konkurrenz häufig auch noch weitere Faktoren eine Rolle, die bisher kaum oder noch gar nicht untersucht wurden. So kann die Anwesenheit einer Spezies die Aktivität gewisser Stoffwechselwege entweder erhöhen oder reduzieren (Andreevskaya *et al.*, 2018).

Der Konkurrenzmechanismus kann entweder durch schnelleres Wachstum oder aber durch aktives Verdrängen funktionieren (Hibbing *et al.*, 2010). In solchen Systemen können z.B. antifungale Substanzen in tieferen Konzentrationen als deren minimale Hemmkonzentration (MHK, oder auf Englisch MIC) vorhanden sein, was darauf hindeutet, dass hier noch andere Effekte wirken (Siedler *et al.*, 2019).

Das Verständnis dieser Konkurrenz wird immer besser und so kann dieser Ansatz auch gezielter eingesetzt werden. Allerdings ist man hier, trotz der bereits langen (unbewussten) Anwendung, noch am Anfang einer interessanten Entwicklung.

Ein konkretes Beispiel einer solchen Konkurrenz um Nährstoffe ist Eisen. Dieses Element ist für das Funktionieren einer Zelle sehr wichtig, in der Natur und somit auch in Lebensmitteln nur sehr schlecht verfügbar. Mikroorganismen (MO) scheiden deshalb Verbindungen (sogenannte Chelatoren, auch als Eisenfänger bezeichnet) aus, um mit deren Hilfe Eisen aufzunehmen und anderen MO zu entziehen. Analog dazu gibt es Mechanismen, die Stickstoff- oder Schwefelverbindungen oder Vitamine der Umgebung entziehen. Für Lebensmittel kann dies auch ein Nachteil sein, da z.B. Eisen für den Menschen so auch nicht mehr verfügbar sein kann.

Ein wichtiger Mechanismus wie Mikroorganismen Nischen für sich beanspruchen und Fremdbesiedelung verhindern sind Biofilme. Einzelne Arten von Mikroorganismen oder auch Mischpopulationen können auf Oberflächen Aggregate oder Schichten bilden, die gegenüber Umwelteinflüssen, aber auch anderen Mikroben, wesentlich widerstandsfähiger sind als Einzelzellen. Biofilme sind ebenfalls Mechanismen, die der Konkurrenz dienen, diese können aber in Lebensmittelbetrieben auch zu unerwünschten Verunreinigungen in z.B. Rohren führen.

Praktische Anwendung

Die oben erwähnten Mechanismen werden bereits heute in Applikationen umgesetzt. Dies kann einerseits nur mit dem Einsatz von Starterkulturen, aber auch durch die zusätzliche Anwendung von sogenannten Schutzkulturen sein. In diesem Zusammenhang ist hier wichtig, die Starterkultur von der Schutzkultur zu unterscheiden. Eine Starterkultur kann selber ebenfalls Eigenschaften einer Schutzkultur aufweisen (z.B. Bakteriozine bilden). Allerdings ist die Starterkultur in erster Linie für Effekte wie die Säuerung, Aromabildung und/oder Textur verantwortlich und kann daher nicht in beliebigen Produkten eingesetzt werden.

Im Gegensatz dazu ist eine Schutzkultur eine Zusatzkultur, welche den einzigen Zweck hat, Pathogene und Verderbniserreger zu hemmen oder abzutöten. Die Schutzkultur hat in der Regel keinen direkten Einfluss auf die Eigenschaften des Produktes. Somit kann eine Schutzkultur in verschiedenen Lebensmitteln eingesetzt werden, solange die Schutzwirkung für das Lebensmittel relevant ist und die Matrix es erlaubt, dass die Schutzkultur ihre Wirkung entfalten kann.

Solche Schutzkulturen wären auch dazu geeignet, die Haltbarkeit von nicht-erhitzten Ready-To-Eat Produkten zu verlängern, ohne deren organoleptischen Eigenschaften zu verändern. Die Anwendung in solchen Produkten verfolgt die Idee, das vorhandene Mikrobiom so anzupassen, dass die Sicherheit und die Qualität der Produkte über eine längere Zeit gewährleistet ist. Hier spielt die Konkurrenz eine wichtige Rolle. Die Anwendung in solchen Produkten ist jedoch noch nicht klar geregelt. Insbesondere dann, wenn die Gefahr besteht, dass die Eigenschaften des Produktes (inkl. Nährwert) verändert würden. In einem solchen Fall würde das Lebensmittel als neuartiges Lebensmittel gelten.

In regulatorischer Hinsicht ist die Anwendung von Schutzkulturen nicht ein Problem in Bezug auf die Sicherheit der Konsumenten, sondern vielmehr der Konsu-

mententäuschung. Man möchte verhindern, dass durch den Einsatz von Schutzkulturen Zusatzstoffe umgangen werden. Dies ist in dem Sinne verständlich, dass Vielen das Bewusstsein fehlt, dass nicht behandelte Lebensmittel eine indigene Mikroflora haben welche die Eigenschaften des Lebensmittels ebenfalls beeinflusst (im Guten aber auch schlechtem Sinne).

Die Anwendung von Mikroorganismen zur Hemmung von Pathogenen und Verderbniserregern wird bereits heute in verschiedenen Lebensmitteln umgesetzt. In Europa ist dies vor allem in der Milch- und Fleischverarbeitung der Fall. Allerdings werden diese Konzepte nun auch vermehrt in der Verarbeitung von Gemüse eingesetzt.

In der Milchverarbeitung kommen diese Konzepte insbesondere in mildsäuernden Produkten (d. h. Produkte mit einem pH-Wert zwischen 5 und 5,5) zum Einsatz, aber auch zur Vermeidung der Spätblähung in Käsen. Der Einsatz von Starterkulturen, aber auch Schutzkulturen, richtet sich dort vor allem gegen Pathogene wie *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella* spp. und STEC (Shiga-Toxin bildende *E. coli*). Um Verderb zu vermeiden, kommen Kulturen zum Einsatz, die Hefen und Schimmel (Fruchtjoghurt) oder *C. tyrobutyricum* (Spätblähung Käse) hemmen (Tabelle 1). In der Regel sind dies Milchsäurebakterien in Form von Einzelstämmen, aber auch Gemische unterschiedlicher Spezies. Aufeinander abgestimmte Mischungen von Stämmen/Spezies können von Vorteil sein, da diese ihre Aktivität sogar gegenseitig verstärken oder ergänzen (Aljasir & D'Amico, 2020; Aljasir et al., 2020; Rodríguez et al., 2012).

Neben den Milchsäurebakterien spielen aber auch weitere Bakterien, die aus den Mikrobiota des Lebensmittels isoliert wurden, eine Rolle. Gerade auf der Käsoberfläche kann das Verständnis dieser Gemeinschaft von Mikroorganismen es ermöglichen, eine spezifische Schutzkultur für die Schmiere zu entwickeln.

Neueste Entwicklungen zeigen, dass selbst gram-negative Bakterien als Schutzkulturen eingesetzt werden können. So kann *Hafnia alvei* *Salmonella* spp. und in Kombination mit Starterkulturen *L. monocytogenes* hemmen (Aljasir & D'Amico, 2020; Callon et al., 2016). Ein Stamm dieser Spezies wird heute als Schutzkultur gegen STEC verkauft.

In Fleischprodukten selber wirken Schutzkulturen häufig in Kombination mit den bisherigen Zusatzstoffen wie Nitriten verstärkt gegen *L. monocytogenes* (Nikodinoska 2019). Auch hier sind vor allem Milchsäurebakterien beteiligt. Es sind jedoch Stämme von Spezies die sich für diese Umgebung adaptiert haben: *Pediococcus pentosaceus*, *Carnobacterium* spp., *Lactococcus piscium*, *Latilac-*

tobacillus sakei. Auch auf der Oberfläche von Fleischprodukten können Schutzkulturen aktiv sein und so Aflatoxine wie Ochratoxin A reduzieren (Cebrián et al., 2019). In Gemüse- und Getreideprodukten ist insbesondere die Hemmung von Schimmeln ein Thema. Hierzu werden vor allem Bakterien eingesetzt, die antifungal wirken (Leyva Salas et al., 2017).

Häufig geht man in Getreideprodukten und Gemüse eher von Schimmel als Verderbniserreger aus. Allerdings ist es auch so, dass *L. monocytogenes* ebenfalls auf Gemüse vorkommen kann. Durch den Zusatz eines *Pediococcus*-Stammes im Waschwasser konnte die Konzentration von *L. monocytogenes* in Gemüse reduziert werden (Ramos et al., 2020).

Bakteriozine wie beispielsweise Nisin könnten auch als Konservierungsstoffe eingesetzt und Lebensmitteln als solche zugegeben werden. Allerdings ist Nisin bisher das einzige Bakteriozin, welches als Konservierungsmittel für spezifische Anwendungen zugelassen ist. Die Anwendung Bakteriozin-produzierender Schutz- oder Starterkulturen könnte sich deshalb auch als problematisch erweisen, weil beispielsweise die Zugabe anderer Bakteriozine untersagt ist.

Mit dem Einsatz von Schutzkulturen, die solche Substanzen ebenfalls bilden, erhält die Frage, ob die Substanz hinzugefügt wurde (Zusatzstoff) oder eben durch die

Tabelle 1 | Liste von ausgewählten kommerziell erhältlichen Schutzkulturen

Name der Schutzkultur	Hersteller	Wirkungsspektrum	Anwendung in LM
FreshQ	Chr Hansen	Verderbniserreger (Hefen und Schimmel)	Milchprodukte
ViniFlora	Chr Hansen	Sulfitreduktion; Hemmung von Essigsäurebakterien; Reduktion biogener Amine	Wein
Dairy Safe	DSM		Milchprodukte
HOLDBAC YM-X	IFF Nutrition and BioSciences (vormals DuPont Danisco)	Hefen und Schimmel	Fermentierte Frisch-Produkte, pflanzenbasierte Lebensmittel, Käse, Joghurt
HOLDBAC Listeria	IFF Nutrition and BioSciences (vormals DuPont Danisco)	<i>Listeria</i> spp.	Weich- und Schmierkäse, Fleisch
Hafnia alvei B16	Lallemand	STEC	Käse
LALCULT LP100	Lallemand	Schimmel	Soja-Joghurt
AYM	Sacco	Hefen und Schimmel	Milchprodukte
AL	Sacco	<i>Listeria</i> spp.	Milchprodukte
AC	Sacco	<i>Clostridia</i> spp.	Milchprodukte
Lyoflora, Lyocarni	Sacco	<i>Listeria</i> spp.	Fisch, Fleisch
Contra C1	Agroscope	<i>Clostridia</i> spp.	Milchprodukte

Schutzkultur gebildet wurde, eine höhere Bedeutung. Manchmal führt diese Befürchtung dazu, dass Schutzkulturen nicht eingesetzt werden. Hierbei wird jedoch der Fokus häufig auf die Bakteriozine gerichtet. Die gleiche Fragestellung ist aber bei Substanzen wie 3-Phenyl-Milchsäure und anderen antimikrobiellen Peptiden zu stellen. Es ist aber auch nicht auszuschliessen, dass solche Substanzen von der indigenen Mikroflora ebenfalls gebildet werden. Genau aus diesem Grund sind es in der Regel Isolate mit der entsprechenden Aktivität, die aus den entsprechenden Produkten isoliert wurde, welche dann als Schutzkulturen eingesetzt werden.

Aktueller Fokus der Forschung

Häufig wird der Einsatz von Kulturen nur im Zusammenhang mit fermentierten Produkten betrachtet. Nicht-fermentierte, nicht thermisch behandelte Lebensmittel wurden in der Art bisher nicht einbezogen. Solche Lebensmittel werden heute auch vielfach als «Ready-To-Eat» angeboten und haben dadurch eine begrenzte Haltbarkeit. Der Grund liegt darin, dass die indigene Mikroflora das Lebensmittel während der Lagerung verderben kann oder, im schlimmsten Fall, Pathogene sich vermehren können und so die Lebensmittelsicherheit gefährden können.

Da jedes nicht-sterile Lebensmittel eine indigene Mikroflora besitzt, findet auch immer eine gewisse Fermentation statt, welche aber bis zu einem gewissen Punkt nicht wahrnehmbar ist. Die Grenze zum traditionell als fermentiertem Lebensmittel bekannten Produkt ist daher fließend, und eine klare Abgrenzung zum eingangs beschriebenen Prozess der Haltbarmachung daher unmöglich. Da früher aber oft so lange fermentiert wurde, bis eine deutliche Säuerung im Produkt wahrnehmbar wurde (z. B. in Sauerkraut, Kimchi, Joghurt), kennen wir oft nur die so entstandenen sauren Produkte als «fermentiert»

Solange die indigene Mikroflora auf diesen Lebensmitteln keinen Einfluss auf die Sicherheit und die Qualität hat, stellt dies für das Produkt kein Problem dar. Allerdings besteht ein Risiko, dass unerwünschte Mikroorganismen Überhand nehmen und so das Produkt verderben. Durch die Zugabe von geeigneten Mikroorganismen (Schutzkulturen), die unter den Lagerbedingungen dieser Lebensmittel aktiv sind und deren End-Eigenschaften beibehalten, soll die indigene Mikroflora so gesteuert werden, dass das Produkt qualitativ gut und sicher bleibt. Idealerweise wurden diese Mikroorganismen aus demselben Produkt oder Rohstoff davon isoliert, so dass dessen Eigenschaften nicht verändert werden.

Ausblick und Konsequenzen

Wie der Titel des Artikels bereits sagt, wurde in den letzten Jahren die Rolle der Fermentation zur Haltbarmachung von Lebensmitteln zu wenig beachtet. Dabei sind die Mechanismen dieser Haltbarmachung ebenfalls etwas in den Hintergrund geraten. Aus diesem Grund ist man heutzutage teilweise auch kritisch beim Einsatz solcher Schutzkulturen obwohl diese Mikroorganismen in der Regel aus dem Produkt isoliert wurden.

Obwohl Bakteriozine und andere antimikrobielle Substanzen bereits länger bekannt sind, stehen wir mit dem gezielten Einsatz von Schutzkulturen zur Hemmung von Verderbniserregern und Pathogenen noch immer am Anfang. Insbesondere der Einsatz solcher Kulturen auf Gemüse oder Obst ist ein neu aufkommendes Gebiet. Dies wird durch das verstärkte Interesse an pflanzlichen Proteinquellen einen weiteren Antrieb erhalten. Es ist allerdings auch so, dass gerade bei der Anwendung auf frischem Gemüse oder Obst die Grenze BioControl/Bio-Preservation überschritten wird. Dies dürfte auch auf regulatorischer Ebene zu neuen Fragestellungen führen. Mit dem Konzept der Konkurrenz weitet sich der Einsatz solcher Kulturen auch auf nicht-fermentierte Lebensmittel aus. Durch einen gezielten und korrekten Einsatz einer Schutzkultur im Rahmen eines Hürdenkonzeptes kann die Haltbarkeit vieler Lebensmittel verlängert und so der Food-Waste reduziert werden.

Ready-To-Eat-Produkte zeigen auch, dass die Systemgrenzen verschwimmen. Durch die indigene Mikroflora dieser Produkte findet eine kaum wahrnehmbare Fermentation statt, die nicht wahrgenommen wird.

Für den Einsatz solcher Lösungen stellt sich die Frage, ob man durch gezielte Beeinflussung der Mikrobiota die Haltbarkeit verlängern und damit Food-Waste vermeiden will oder ob man sich ausschliesslich auf die natürliche Mikroflora verlassen will. ■

Literatur

- Adams, M. R. (2014). Chapter 19 - Acids and Fermentation. In Y. Motarjemi & H. Lelieveld (Eds.), *Food Safety Management* (pp. 467–479). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381504-0.00019-6>
- Aljasir, S. F., & D'Amico, D. J. (2020). The effect of protective cultures on *Staphylococcus aureus* growth and enterotoxin production. *Food Microbiology*, **91**, 103541. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103541>
- Aljasir, S. F., Gensler, C., Sun, L., & D'Amico, D. J. (2020). The efficacy of individual and combined commercial protective cultures against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, O157 and non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* in growth medium and raw milk. *Food Control*, **109**, 106924. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106924>
- Andreevskaya, M., Jääskeläinen, E., Johansson, P., Ylinen, A., Paulin, L., Björkroth, J., & Auvinen, P. (2018). Food Spoilage-Associated *Leuconostoc*, *Lactococcus*, and *Lactobacillus* Species Display Different Survival Strategies in Response to Competition. *Applied and Environmental Microbiology*, **84**(13), e00554-00518. <https://doi.org/doi:10.1128/AEM.00554-18>
- Asare, P. T., Greppi, A., Stettler, M., Schwab, C., Stevens, M. J. A., & Lacroix, C. (2018). Decontamination of Minimally-Processed Fresh Lettuce Using Reuterin Produced by *Lactobacillus reuteri* [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, **9**(1421). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01421>
- Bourdichon, F., Arias, E., Babuchowski, A., Bückle, A., Bello, F. D., Dubois, A., Fontana, A., Fritz, D., Kemperman, R., Laulund, S., McAuliffe, O., Miks, M. H., Papademas, P., Patrone, V., Sharma, D. K., Sliwinski, E., Stanton, C., Von Ah, U., Yao, S., & Morelli, L. (2021). The forgotten role of food cultures. *FEMS Microbiology Letters*, **368**(14). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnab085>
- Callon, C., Arliguie, C., & Montel, M.-C. (2016). Control of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* in cheese by dairy bacterial strains. *Food Microbiology*, **53**, 63–70. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.08.009>
- Cascales, E., Buchanan, S. K., Duché, D., Kleanthous, C., Llobes, R., Postle, K., Riley, M., Slatin, S., & Cavard, D. (2007). Colicin biology. *Microbiology and molecular biology reviews*, **71**(1), 158–229.
- Cebrían, E., Rodríguez, M., Peromingo, B., Bermúdez, E., & Núñez, F. (2019). Efficacy of the Combined Protective Cultures of *Penicillium chrysogenum* and *Debaryomyces hansenii* for the Control of Ochratoxin A Hazard in Dry-Cured Ham. *Toxins*, **11**(12), 710. <https://www.mdpi.com/2072-6651/11/12/710>
- Cleusix, V., Lacroix, C., Vollenweider, S., Duboux, M., & Le Blay, G. (2007). Inhibitory activity spectrum of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* against intestinal bacteria. *BMC Microbiology*, **7**(1), 101. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-7-101>
- Dieuleveux, V., Lemarinier, S., & Guéguen, M. (1998). Antimicrobial spectrum and target site of d-3-phenyllactic acid. *International Journal of Food Microbiology*, **40**(3), 177–183. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00031-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00031-2)
- Doores, S. (2005). Organic Acids. In D. P. M., T. T. M., & D. J. R. D. (Eds.), *Antimicrobials in food* (3rd ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Engels, C., Schwab, C., Zhang, J., Stevens, M. J. A., Bieri, C., Ebert, M.-O., McNeill, K., Sturla, S. J., & Lacroix, C. (2016). Acrolein contributes strongly to antimicrobial and heterocyclic amine transformation activities of reuterin. *Scientific Reports*, **6**(1), 36246. <https://doi.org/10.1038/srep36246>
- Gross, E., & Morell, J. L. (1971). Structure of nisin. *Journal of the American Chemical Society*, **93**(18), 4634–4635. <https://doi.org/10.1021/ja00747a073>
- Hibbing, M. E., Fuqua, C., Parsek, M. R., & Peterson, S. B. (2010). Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nature Reviews Microbiology*, **8**(1), 15–25. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2259>
- IDF. (2019). *IDF Factsheet 7/2019 Bioprotection*. IDF. Retrieved 29.08.2022 from <https://shop.fil-idf.org/products/idf-factsheet-007-2019-bioprotection>
- Kawtharani, H., Snini, S. P., Heang, S., Bouajila, J., Taillandier, P., Mathieu, F., & Beaufort, S. (2020). Phenyllactic Acid Produced by *Geotrichum candidum* Reduces *Fusarium sporotrichioides* and *F. langsethiae* Growth and T-2 Toxin Concentration. *Toxins*, **12**(4), 209. <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/4/209>
- Leyva Salas, M., Munier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., & Coton, E. (2017). Antifungal Microbial Agents for Food Biopreservation – A Review. *Microorganisms*, **5**(3), 37. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030037>
- Mani-López, E., García, H. S., & López-Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International*, **45**(2), 713–721. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.043>
- Muhialdin, B. J., Alghoory, H. L., Kadum, H., Mohammed, N. K., Saari, N., Hassan, Z., & Meor Hussin, A. S. (2020). Antifungal activity determination for the peptides generated by *Lactobacillus plantarum* TE10 against *Aspergillus flavus* in maize seeds. *Food Control*, **109**, 106898. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106898>
- Nazareth, T. d. M., Luz, C., Torrijos, R., Quiles, J. M., Luciano, F. B., Mañes, J., & Meca, G. (2020). Potential Application of Lactic Acid Bacteria to Reduce Aflatoxin B1 and Fumonisin B1 Occurrence on Corn Kernels and Corn Ears. *Toxins*, **12**(1), 21. <https://www.mdpi.com/2072-6651/12/1/21>
- O'Sullivan, J. N., O'Connor, P. M., Rea, M. C., O'Sullivan, O., Walsh, C. J., Healy, B., Mathur, H., Field, D., Hill, C., & Ross, R. P. (2020). Nisin J, a Novel Natural Nisin Variant, Is Produced by *Staphylococcus capitis* Sourced from the Human Skin Microbiota. *Journal of Bacteriology*, **202**(3), e00639-00619. <https://doi.org/doi:10.1128/JB.00639-19>
- Ramos, B., Brandão, T. R. S., Teixeira, P., & Silva, C. L. M. (2020). Biopreservation approaches to reduce *Listeria monocytogenes* in fresh vegetables. *Food Microbiology*, **85**, 103282. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103282>
- Rodríguez, N., Salgado, J. M., Cortés, S., & Domínguez, J. M. (2012). Antimicrobial activity of d-3-phenyllactic acid produced by fed-batch process against *Salmonella enterica*. *Food Control*, **25**(1), 274–284. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.10.042>
- Said, L. B., Gaudreau, H., Dallaire, L., Tessier, M., & Fliss, I. (2019). Bioprotective Culture: A New Generation of Food Additives for the Preservation of Food Quality and Safety. *Industrial Biotechnology*, **15**(3), 138–147. <https://doi.org/10.1089/ind.2019.29175.lbs>
- Schaefer, L., Auchtung, T. A., Hermans, K. E., Whitehead, D., Borhan, B., & Britton, R. A. (2010). The antimicrobial compound reuterin (3-hydroxypropionaldehyde) induces oxidative stress via interaction with thiol groups. *Microbiology*, **156**(6), 1589–1599. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mic.0.035642-0>
- Siedler, S., Balti, R., & Neves, A. R. (2019). Bioprotective mechanisms of lactic acid bacteria against fungal spoilage of food. *Current Opinion in Biotechnology*, **56**, 138–146. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.015>
- Vos, W. M. d., Mulders, J. W., Siezen, R. J., Hugenholtz, J., & Kuipers, O. P. (1993). Properties of nisin Z and distribution of its gene, nisZ, in *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**(1), 213–218. <https://doi.org/doi:10.1128/aem.59.1.213-218.1993>
- Wilson, P. D. G., Wilson, D. R., & Waspe, C. R. (2000). Weak acids: dissociation in complex buffering systems and partitioning into oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**(4), 471–476. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(200003\)80:4<471::AID-JSFA552>3.0.CO;2-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(200003)80:4<471::AID-JSFA552>3.0.CO;2-9)